

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: B200325009

UDC _____

厦 门 大 学

博 士 学 位 论 文

太子参中有效成分的分离纯化、结构鉴定、
及其指纹图谱研究

The Isolation, Purification and Structure Identification of
the Effective Components in *Pseudostellaria heterophylla*
(Miq.) Pax and the Study of the Fingerprinting

韩 超

指导教师姓名: 王 小 如 教授

专 业 名 称: 分 析 化 学

论文提交日期: 2 0 0 6 年 6 月

论文答辩日期: 2 0 0 6 年 7 月

学位授予日期: 2 0 0 6 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2006 年 7 月

厦门大学学位论文原创性声明

兹提交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版，有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅，有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索，有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

1、保密（ ），在 年解密后适用本授权书。

2、不保密（ ）

（请在以上相应括号内打“√”）

作者签名：

日期： 年 月 日

导师签名：

日期： 年 月 日

目 录	
摘要.....	1
第一章 绪论.....	1
1 太子参研究进展.....	2
1.1 太子参概述.....	2
1.2 太子参中的化学成分.....	3
1.3 药理作用.....	8
2 高速逆流色谱分离分析技术(HSCCC).....	9
2.1 高速逆流色谱分离分析技术(HSCCC)简介.....	9
2.2 高速逆流色谱仪及溶剂体系简介.....	9
3 中药指纹图谱概述.....	10
3.1 中药指纹图谱简述.....	10
3.2 指纹图谱主要研究方法和应用.....	11
3.3 中药指纹图谱的检测方法.....	11
3.4 中药指纹图谱的研究近况.....	12
4 中药无机元素测定.....	19
4.1 中药无机元素测定研究概述.....	19
5 本论文研究目标.....	21
参 考 文 献.....	22
第二章 太子参多糖和氨基酸含量测定.....	28
2.1 引言.....	28
2.2 太子参多糖含量测定.....	29
2.3 实验部分.....	29
2.3.1 材料与试剂.....	29
2.3.2 仪器与设备.....	30
2.3.3 实验方法.....	30

2.4 结果与讨论	32
2.4.1 最大吸收波长的确定	32
2.4.2 重现性试验结果	33
2.4.3 稳定性试验结果	34
2.4.4 加样回收率试验结果	34
2.4.5 不同采收期太子参中多糖含量的比较	34
2.5 太子参氨基酸含量测定	36
2.6 实验部分	36
2.6.1 仪器与试剂	36
2.6.2 样品处理	37
2.6.3 样品衍生	37
2.6.4 色谱条件	37
2.6.5 工作曲线的绘制	38
2.7 结果与讨论	39
2.7.1 供试品液相色谱分离情况	39
2.7.2 精密度	40
2.7.3 回收率实验	40
2.7.4 pH 值对本法的分析结果的影响	40
2.7.5 太子参中氨基酸的含量测定结果	40
2.8 本章小结	43
参 考 文 献	45
 第三章 太子参指标成分的高速逆流色谱分离纯化研究	 46
3.1 前言	46
3.2 实验部分	47
3.2.1 材料和仪器	47
3.2.2 实验方法	48
3.3 结果与讨论	49

3.3.1 溶剂系统选择.....	50
3.3.2 HSCCC 分离参数的确定.....	54
3.3.3 太子参环肽 Pseudostellarin B 化合物的结构鉴定.....	55
3.4 本章小结	59
参 考 文 献	60

第四章 太子参环肽 Pseudostellarin B 含量的 RP-HPLC 测定及高效液相色谱/质谱分析太子参中环肽类化合物.....61

4.1 引言	61
4.2 太子参环肽 Pseudostellarin B 含量的 RP-HPLC 测定.....	62
4.3 实验部分	62
4.3.1 材料与试剂.....	62
4.3.2 仪器与设备.....	64
4.3.3 实验方法.....	64
4.4 结果与讨论	64
4.4.1 供试品液相色谱分离情况.....	64
4.4.2 Pseudostellarin B 色谱峰的确认.....	66
4.4.3 回归方程和线性范围.....	66
4.4.4 方法学考察.....	67
4.4.5 太子参环肽 Pseudostellarin B 的含量测定结果.....	68
4.5 高效液相色谱/电喷雾飞行时间质谱分析太子参中环肽类化合物	71
4.5.1 仪器与试剂.....	71
4.5.2 样品溶液的制备	72
4.5.3 HPLC 色谱分离条件	72
4.5.4 HPLC/ESI-TOFMS 条件.....	72
4.5.5 结果与讨论.....	73
4.6 高效液相色谱/大气压化学电离质谱分析太子参中环肽类化合物	77

4.6.1 仪器与试剂.....	77
4.6.2 样品溶液的制备.....	77
4.6.3 HPLC 色谱分离条件	77
4.6.4 HPLC/APCI/ MS 条件	77
4.6.5 结果与讨论.....	78
4.7 太子参中环肽 Pseudostellarin B 化合物含量	83
4.7.1 样品溶液的制备.....	83
4.7.2 HPLC 色谱分离条件	83
4.7.3 HPLC/APCI/ MS 条件	83
4.7.4 回归方程、线性范围和检出限.....	83
4.7.5 方法学考察.....	84
4.7.6 太子参环肽 Pseudostellarin B 的含量测定结果.....	85
4.8 本章小结	85
参 考 文 献	86
第五章 太子参指纹图谱研究	89
5.1 前言	89
5.2 实验部分(太子参样品 HPLC、HPLC-TOF-MS 指纹图谱建立)	92
5.2.1 材料与试剂.....	92
5.2.2 仪器与设备.....	93
5.2.3 实验方法.....	93
5.3 结果与讨论	94
5.3.1 提取条件的优化.....	94
5.3.2 不同波长的选择.....	95
5.3.3 梯度洗脱程序的建立.....	95
5.3.4 色谱柱与流速对分离的影响.....	95
5.3.5 色谱条件的优化.....	96
5.3.6 精密度和重现性.....	96

5.3.7 样品的稳定性考察.....	96
5.4 不同产地太子参样品 HPLC 指纹图谱建立.....	97
5.4.1 峰匹配及差异性评价.....	98
5.4.2 相似度分析.....	99
5.4.3 聚类分析.....	101
5.5 不同品种、不同采收期太子参样品 HPLC-TOF-MS 指纹图谱建立.....	102
5.5.1 峰匹配及差异性评价.....	106
5.5.2 相似度分析.....	108
5.5.3 聚类分析.....	112
5.5.4 HPLC-TOF-MS 分析太子参样品中的环肽类化合物.....	113
5.6 太子参样品元素指纹图谱建立.....	117
5.6.1 材料与试剂.....	117
5.6.2 仪器与设备.....	117
5.6.3 实验方法.....	118
5.6.4 结果与讨论.....	119
5.6.5 不同产地太子参的因子分析和聚类分析的结果.....	123
5.6.6 聚类分析.....	128
5.7 太子参样品近红外光谱指纹图谱建立.....	130
5.7.1 实验设备与样本.....	130
5.7.2 训练集的制备.....	131
5.7.3 结果与讨论.....	131
5.8 本章小结.....	134
参 考 文 献.....	136
 第六章 结论与创新.....	 139
6.1 结论.....	139
6.2 研究的创新之处.....	140
6.3 研究展望.....	141

附录 1: 太子参环肽 Pseudostellarin B 的 NMR 图谱.....	142
附录 2: 攻读博士期间已发表和待发表的论文.....	145
致谢.....	147

厦门大学博硕士

CONTENTS

Abstract	1
Chapter 1 Exordium	1
1 Research and Development of Taizishen	2
1.1 Introduction.....	2
1.2 Chemical Components of Taizishen	3
1.3 Pharmacology	8
2 HSCCC	9
2.1 HSCCC Introduction.....	9
2.2 HSCCC instrument and solvents Introduction.....	9
3 Chromatographic fingerprint Introduction	10
3.1 Introduction.....	10
3.2 Methods and application	11
3.3 Detection methods	11
3.4 Recent situation of fingerprint	12
4 Determination of elements in Chinese medicine	19
4.1 Introduction of determination of elements in Chinese medicine	19
5 Main Contents	21
References	22

Chapter 2 Determination of Polysaccharides and Amino Acids in Taizishen

.....	28
2.1 Introduction	28
2.2 Determination of Polysaccharides	29
2.3 Experimental	29
2.3.1 Materials and Apparatus.....	29

2.3.2 Instrumentation	30
2.3.3 Methods.....	30
2.4 Results and Discussion.....	32
2.4.1 Ascertain of max absorb wavelength	32
2.4.2 Results of reproducibility.....	33
2.4.3 Results of stability.....	34
2.4.4 Results of recovery.....	34
2.4.5 Compared content of Polysaccharides in different harvest times	34
2.5 Determination of Amino Acids	36
2.6 Experimental.....	36
2.6.1 Materials and Apparatus.....	36
2.6.2 Sample preparation	37
2.6.3 Sample derivatives	37
2.6.4 Conditions of HPLC.....	37
2.6.5 Linear calibration curve	38
2.7 Results and Discussion.....	39
2.7.1 Conditions of sample separation.....	39
2.7.2 Precision.....	40
2.7.3 Results of recovery.....	40
2.7.4 pH affected the result	40
2.7.5 Contents of Amino Acids in Taizishen.....	40
2.8 Conclusions.....	43
References	45
 Chapter 3 Separation of Bioactive Component from Taizishen by	
High-speed Counter-current Chromatography (HSCCC)	46
3.1 Introduction.....	46

3.2 Experimental	47
3.2.1 Materials and Apparatus.....	47
3.2.2 Methods.....	48
3.3 Results and Discussion	49
3.3.1 Selection of Solvent System	50
3.3.2 Optimization of Operational Parameters.....	54
3.3.3 Structure Identification of Pseudostellarin B	55
3.4 Conclusions	59
References	60

Chapter 4 Determination of Pseudostellarin B by RP-HPLC and Analysis

of Cyclic Peptides in Taizishen by LC/MS	61
4.1 Introduction	61
4.2 Determination of Pseudostellarin B by RP-HPLC	62
4.3 Experimental	62
4.3.1 Materials and Apparatus.....	62
4.3.2 Instrumentation	64
4.3.3 Methods.....	64
4.4 Results and Discussion	64
4.4.1 Conditions of sample separation	64
4.4.2 Identification of Pseudostellarin B.....	66
4.4.3 Linear calibration curve	66
4.4.4 Stability, precision and reproducibility	67
4.4.5 Content of Pseudostellarin B.....	68
4.5 Analysis of Cyclic Peptides in Taizishen by LC/ESI-TOF-MS	71
4.5.1 Materials and Apparatus.....	71
4.5.2 Sample preparation	72

4.5.3 Conditions of HPLC.....	72
4.5.4 Conditions of HPLC/ESI-TOFMS	72
4.5.5 Results and Discussion.....	73
4.6 Analysis of Cyclic Peptides in Taizishen by LC/APCI/MS.....	77
4.6.1 Materials and Apparatus.....	77
4.6.2 Sample preparation	77
4.6.3 Conditions of HPLC.....	77
4.6.4 Conditions of HPLC/APCI/ MS	77
4.6.5 Results and Discussion.....	78
4.7 Content of Pseudostellarin B in Taizishen	83
4.7.1 Sample preparation	83
4.7.2 Conditions of HPLC.....	83
4.7.3 Conditions of HPLC/APCI/ MS	83
4.7.4 Linearity and detection limit.....	83
4.7.5 Stability, precision and reproducibility	84
4.7.6 Content of Pseudostellarin B.....	85
4.8 Conclusions.....	85
References.....	85
 Chapter 5 Fingerprint chromatogram analysis of Taizishen.....	 89
5. 1 Introduction.....	89
5.2 Experimental (Fingerprint chromatogram analysis of Taizishen by HPLC、HPLC-TOF-MS)	92
5.2.1 Materials and Apparatus.....	92
5.2.2 Instrumentation	93
5.2.3 Methods.....	93
5.3 Results and Discussion.....	94
5.3.1 Performance of HPLC separation	94

5.3.2 Selection of wavelength	94
5.3.3 Eluted procedure established.....	95
5.3.4 Effect on separation by column and flow rate	95
5.3.5 Optimization of HPLC condition.....	96
5.3.6 Pecision and reproducibility.....	96
5.3.7 Stability	96
5.4 Fingerprint chromatogram analysis of Taizishen by HPLC	97
5.4.1 Peaks matching	98
5.4.2 Similarity analysis.....	99
5.4.3Hierarchical clustering analysis	101
5.5 Fingerprint chromatogram analysis of Taizishen by HPLC-TOF-MS	102
5.5.1 Peaks matching	107
5.5.2 Similarity analysis.....	108
5.5.3 Hierarchical clustering analysis	112
5.5.4 Analysis of Cyclic Peptides in Taizishen by LC/ESI-TOF-MS	113
5.6 Fingerprint chromatogram analysis of Taizishen by elements.....	117
5.6.1 Materials and Apparatus.....	117
5.6.2 Instrumentation	117
5.6.3 Methods.....	118
5.6.4 Results and Discussion.....	119
5.6.5 Results of factor	123
5.6.6 Hierarchical clustering analysis	128
5.7 Fingerprint chromatogram analysis of Taizishen by NIRS	130
5.7.1 Materials and Apparatus.....	130
5.7.2 Methods.....	131
5.7.3 Results and Discussion.....	131
5.8 Conclusions.....	134
References	136

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕